

Papel del gen TP53 en la oncogénesis

Juan Carlos Herrera Patiño,^{1,3} Gonzalo Vásquez Palacio,^{2,3} José Luis Ramírez Castro,^{2,3}
Carlos Mario Muñetón Peña^{2,3}

La oncogénesis comprende múltiples etapas que incluyen cambios dinámicos en el genoma ocasionados por diversos factores que afectan principalmente dos grandes grupos de genes: los genes supresores de tumores (GST) y los proto-oncogenes. Ambos intervienen en diferentes e importantes procesos biológicos como la proliferación y diferenciación celular. Dentro de los GST se destaca el gen TP53 que codifica para una fosfoproteína nuclear de 53kD, la cual actúa como factor de transcripción y regula positivamente la expresión de diferentes genes de vital importancia en varios mecanismos celulares: control del ciclo celular, apoptosis, replicación y reparación del ADN, como también en el proceso de envejecimiento. Este gen conocido como “guardián del genoma”, ha sido ampliamente estudiado desde su identificación y se encuentra alterado en cerca del 60% de todos los tumores; además, tiene notable interés para el diagnóstico y pronóstico de pacientes con cáncer. *Salud UIS* 2004; 36: 88-99

Palabras claves: oncogénesis, gen TP53, genes supresores de tumores, terapia antineoplásica

Oncogenesis is a multistep process including genomic dynamic changes induced by diverse factors mainly affecting two gene great groups: the tumor suppressor genes and proto-oncogenes. Both take part in different and important biological processes as cell proliferation and differentiation. Among the tumor suppressor genes, the gene TP53 encodes for one 53kD nuclear phosphoprotein which acts as transcription factor regulating positively the expression of different and very important genes mediating several cell mechanisms, such as control cell cycle, apoptosis, DNA replication and repair. This gene, also known as “guardian of genomic integrity”, has been extensively studied and has been found altered in near 60% of all the tumors; in addition, it has remarkable interest for the diagnosis and prognosis of cancer patients. *Salud UIS* 2004; 36: 88-99

Key words: oncogenesis, TP53 gen, tumour suppressor genes, antineoplastic therapy

INTRODUCCIÓN

La oncogénesis es un proceso de múltiples etapas que incluye cambios dinámicos en el genoma, comprometiendo principalmente, dos grandes grupos de genes: los genes supresores de tumores (GST) y los proto-oncogenes, ambos intervienen en diferentes e importantes procesos biológicos como la proliferación y diferenciación celular, el control del ciclo y la apoptosis.¹ Así mismo, debido a los continuos cambios ambientales y culturales, la maquinaria celular está en permanente contacto con numerosos tipos de compuestos mutagénicos

y cancerígenos que actúan por vías endógena y exógena. Por lo anterior, el cáncer se presenta con una alta y progresiva tasa de morbi-mortalidad en la población mundial. Según un informe reciente de la Organización Mundial de la Salud del 2003, la incidencia del cáncer podría aumentar en un 50% hacia el año 2020 y alcanzar una cifra de 15 millones de nuevos casos (3 April 2003 | Geneva, Switzerland).²

Entre los GST se destaca el gen TP53 que codifica para una fosfoproteína nuclear de 53kD (p53), que en condiciones normales regula la respuesta celular ante un daño en el ADN. Debido a la estabilidad y a la función que cumple en presencia de una lesión en el ADN; se le denomina “gen guardián del genoma”. Éste, ha sido ampliamente estudiado desde su identificación y se encuentra alterado en cerca del 60% de todos los tipos de tumores. Además, se ha calculado que aproximadamente de los 6.5 millones de casos de cáncer informados anualmente en el mundo, 2.4 millones de los mismos ocurren por mutaciones en el gen TP53.³ Las alteraciones genéticas identificadas en el mismo son diversas e incluyen mutaciones puntuales, deleciones, pérdida alélica, aneuploidias y alteraciones en la región cromosómica 17p; además, en algunos tipos de tumores se ha informado interacciones con proteínas virales que alteran su función.⁴

1Estudiante Maestría en ciencias Básicas Biomédicas, área Genética. Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia. Medellín. Colombia

2Docente Facultad de Medicina. Universidad de Antioquia. Medellín. Colombia

3Unidad de Genética Médica. Facultad de Medicina. Universidad de Antioquia. Medellín. Colombia

Correspondencia: Juan Carlos Herrera Patiño. Carrera 51D N° 62-29. Unidad de Genética Médica (Lab.119). Facultad de Medicina - Universidad de Antioquia. Medellín - Colombia. Email: jherrera@medicina.udea.edu.co, cmuneton@catios.udea.edu.co

Recibido Septiembre 22 de 2004 / Aceptado Octubre 24 de 2004

Son numerosos los carcinógenos exógenos y endógenos que aumentan la frecuencia de mutación de este gen y gracias a los diferentes estudios en mutagénesis se ha logrado conocer las interacciones específicas con importantes agentes químicos como por ejemplo: la N-nitrosamamina, hidrocarburos aromáticos policíclicos y toxinas fúngicas.

Independiente de las alteraciones somáticas del gen TP53 reconocidas en diferentes tipos de tumores, las mutaciones germinales se relacionan con una entidad autosómica dominante conocida como el Síndrome de Li Fraumeni, el cual se caracteriza por presentar una alta predisposición a desarrollar en edades tempranas diversas neoplasias tales como: sarcomas, cáncer de mama, leucemia, melanoma, cáncer de colon entre otros.⁵

El propósito del presente artículo es recopilar los conocimientos obtenidos a partir de múltiples investigaciones sobre las funciones del gen TP53 y su proteína p53 en la célula, así como, las implicaciones de las mutaciones en el proceso oncogénico.

ESTRUCTURA Y ACTIVACIÓN DE LA PROTEÍNA p53

La identificación de la proteína p53 en 1979 se debió a un encuentro entre dos áreas básicas, la virología y la

inmunología, cuando se buscaba el mecanismo por el cual el polyomavirus SV40 inducía una transformación fenotípica en las células SVA31E7 (células transformadas con SV40).⁶ Este hallazgo permitió identificar una proteína de 53kD que interactuaba con el Antígeno T viral, sugiriendo que esta proteína es la responsable de la transformación celular y clasificándola inicialmente como oncoproteína; diez años después, mediante numerosos estudios se logró identificar la función supresora de tumores de la proteína p53. La cual era codificada por el gen TP53.⁷

La posterior caracterización de la proteína p53 en *Xenopus laevis* indicó que existen similitud de regiones con otras proteínas p53 de diferentes especies, permitiendo una clasificación estructural según los dominios conservados evolutivamente y los dominios funcionales,⁸ así mismo, la identificación de los dominios conservados sugirió regiones proteicas con gran importancia funcional; y en efecto, cuando se realizaron análisis de mutaciones en el gen TP53 se registraron sitios “calientes” para las mutaciones que comprometen principalmente 3 de los 5 dominios conservados. (Figura 1).

Los dominios funcionales de la proteína p53 se encuentran distribuidos de la siguiente manera:

1. Dominio de transactivación, ubicado en la región aminoterminal que participa en las interacciones

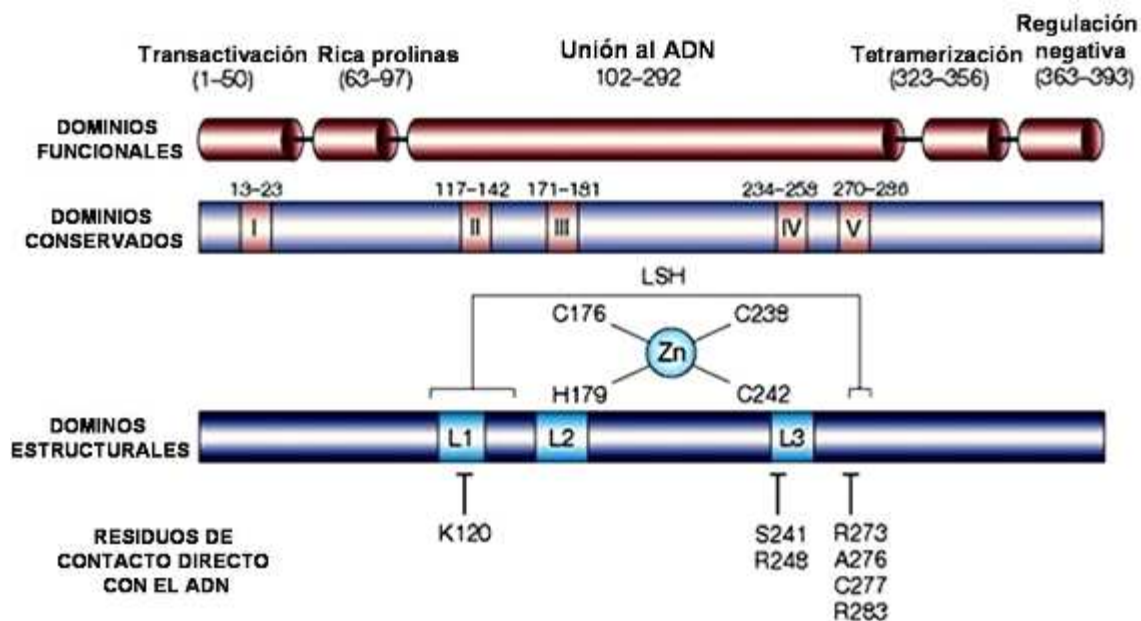


Figura 1. Organización estructural de la proteína p53 en humanos, presenta 5 dominios conservados evolutivamente y tres dominios funcionales. (Tomado y modificado de: Soussi T, Beroud C. Assessing TP53 status in human tumours to evaluate clinical outcome. Nature Rev Cancer. 2001)

proteína-proteína que regulan su estabilidad y función (Figura 1); por análisis de mutagénesis dirigida se lograron definir los residuos L22 y W23 como esenciales para su actividad transactivadora.⁹ Esta región es el sitio de unión de la proteína mdm2, específicamente sobre los residuos 18 al 23, de RPA, hsp70, proteína viral E1B del adenovirus y de los coactivadores transcripcionales TAF_{II}40 y TAF_{II}60,¹⁰⁻¹⁴ además, se ha informado un polimorfismo en la posición 72 Arg/Pro, donde, la Arg72 presenta una estructura más sensible a la degradación inducida por la proteína E6 del papilomavirus humano.¹⁵

2. Dominio central (participa en la interacción proteína-ADN) (Figura 1). Es la región que tiene contacto directo con secuencias específicas del ADN: cuatro repeticiones de la secuencia PuPuPuCA/TA/TGPyPyPy en el ADN, por medio de los residuos aminoacídicos K120, S241, R248, R273, A276, C277, R283. Para tal interacción es indispensable la presencia de una molécula de Zinc unida a los residuos C176, C238, H179 y C242 de la proteína. Existen tres evidencias que sugieren que esta región es de vital importancia para su actividad: 1) La alta frecuencia de mutaciones identificadas por diferentes técnicas moleculares (cerca del 80%), 2) La localización de cuatro de los cinco dominios conservados evolutivamente y 3) La presencia del sitio de unión del antígeno T del SV40.

3. Dominio de tetramerización, ubicado en la región carboxiterminal que interviene en la interacción entre unidades monoméricas de la proteína (Figura 1). La proteína p53 se encuentra principalmente en forma de tetrámero y los residuos 323 al 353 son esenciales para su ensamblaje;¹⁶ se han atribuido otras dos funciones biológicas: señales de localización nuclear (SLN) y sitio de unión y reconocimiento del daño en el ADN.¹⁷ Las modificaciones postraduccionales como fosforilaciones y acetilaciones sobre este dominio permiten potenciar la especificidad de la unión al ADN, razón por la cual también se le ha denominado región reguladora de la proteína.^{18,19} A pesar de ser una región vital para la estabilización del tetrámero, y por tanto, para la función de la proteína, se han detectado pocas mutaciones en la misma, posiblemente por ser una región que requiera mayor estudio.

El gen TP53, contiene 11 exones (el exón 1 no codifica) y está localizado en la región cromosómica 17p13.1. Sintetiza un ARNm de 3.0Kb que codifica una fosfoproteína nuclear de 53kD, de 393 aminoácidos, presenta una vida media de 30 minutos en células carentes de estrés, sus monómeros forman una estructura tetramérica que actúa como factor de transcripción para regular positivamente la expresión

de diferentes genes; entre estos se destacan: p21/waf1, MDM2, GADD45 (“*grow-arrest-DNA-Damage-inducible*”), Bax, PIGs, IGF-BP, Fas, Fas-L y DR5, estos genes, son de gran importancia porque participan en diferentes mecanismos celulares tales como el control del ciclo celular, la adhesión celular, la apoptosis, la replicación y la reparación del ADN.²¹⁻²⁴ Por otra parte, la proteína p53 también inhibe la expresión de la topoisomerasa IIa para bloquear indirectamente la entrada a fase S y puede reprimir promotores cuya iniciación es dependiente de la presencia de la caja TATA por la interacción directa con TBP (TATA Binding Protein).²⁵ Esta interacción puede presentarse en el dominio aminoterminal (residuos 20-57) y en dominio carboxiterminal (residuos 318-393) de la proteína p53 con la misma región de TBP (residuos 220-271).²⁰

Por otra parte, las vías de señalización que conducen a la activación de la proteína p53 e inducen su forma estable, incluyen la lesión ocasionada en el ADN por agentes exógenos y endógenos, el estrés oncogénico (activación de la vía p14^{ARF}) entre muchas otras. Por lo anterior, la integridad del gen TP53 es necesaria para la estabilidad genómica en diferentes organismos (Figura 2).

TP53 Y DAÑO EN EL ADN

¿Cómo detecta el daño la proteína p53? Soussi en 1996 propone un modelo de dos pasos para su actividad después de una lesión en el ADN. En el primer paso, la proteína p53 puede unirse directamente en forma de tetrámero al punto de la lesión, tal unión produce la acumulación de la proteína y se induce un cambio en su conformación gracias a las modificaciones postraduccionales por parte de otras proteínas celulares que permiten la liberación de una proteína “competente” del complejo. En el segundo paso, la proteína p53 “competente” puede activar la expresión de genes implicados en el control del ciclo celular, la reparación del daño o en la apoptosis.²⁶

En la actualidad se conocen algunas interacciones proteicas que regulan negativamente a p53, como es la proteína mdm2 (facilita su degradación normal por ubiquitinización) y las proteínas virales E1B propia del adenovirus tipo 5, el antígeno T del SV40 y la proteína E6 del papilomavirus humano.²⁷

TP53 Y CONTROL DEL CICLO CELULAR

La proteína p53 regula negativamente la progresión del ciclo celular debido al efecto inhibitorio que realizan las proteínas p21 y 14-3-3g sobre diferentes complejos de cdk/ciclina en presencia de un daño en el ADN,

produciendo una detención en la transición G1/S y G2/M.^{20, 28-30} Esta inhibición genera una acumulación de la proteína pRb unida al factor de transcripción E2F; en condiciones normales, la pRb presenta diferentes estados de fosforilación (por complejos cdk/ciclina) hasta tal punto de permitir la liberación del factor E2F, necesario para regular positivamente la transcripción de genes requeridos en el inicio y transcurso de la replicación. Por otra parte, tanto la proteína p21 como gadd45 pueden regular indirectamente la progresión por otra vía, interactuando con PCNA (antígeno nuclear de proliferación celular), de tal manera que no permite que se realice con éxito la fase de elongación en la replicación del ADN;³¹ además de las inhibiciones indirectas del ciclo antes mencionadas, se ha demostrado que la proteína p21 puede llegar a formar complejos con subunidades de E2F induciendo, de igual manera, la detención del ciclo³² (Ver figura 3). Del mismo modo, la proteína de unión IGF-BP (cuyo gen es regulado positivamente por la proteína p53), al unirse con IGF impide la interacción con su receptor (IGFR) bloqueando, de esta manera, la vía de señalización que induciría el ingreso a mitosis.³⁴ Recientemente se ha sugerido un papel para la proteína Ras y la quinasa activadora de mitógeno (MAPK) en la regulación de p53; una alta expresión de la proteína Ras o activación de la vía MAPK quinasa induce detención del ciclo dependiente de p53.^{35, 36} De forma similar, se informa otro papel de la proteína p53 en el punto de control en

la transición G2/M, cuando se detecta una duplicación anormal de los centrosomas y alteración en el ensamble del huso mitótico.^{37, 38}

TP53 Y REPARACIÓN

Poco se conoce sobre esta función desde el punto de vista molecular, aunque algunas observaciones en diferentes estudios pretenden esclarecer este mecanismo. En la reparación resulta importante la actividad transactivadora de la proteína p53 sobre el gen GADD45 y p21/Waf1; en condiciones *in vitro* la proteína Gadd45 se une a PCNA para inducir la reparación de la lesión; por otra parte, la proteína p21 al unirse con PCNA impide su interacción con la ADN polimerasa d inhibiendo así la replicación. En consecuencia, un equilibrio entre estas dos proteínas controlará de manera eficiente dos mecanismos biológicos esenciales: reparación y replicación. Por otra parte, se han propuesto las proteínas ATM y NBS1 como componentes en la vía de señalización de p53 corriente arriba. La primera actúa en respuesta a un daño del ADN por radiación g pero no así por radiación ultravioleta y la segunda en respuesta al daño por radiación ionizante,³⁹⁻⁴¹ de manera similar, la polimerasa poli-ADP (PARP), importante en el reconocimiento del daño y reparación del ADN, induce un aumento en la cantidad de la proteína p53 en fibroblastos de ratón en condiciones *in vitro*.⁴² Adicional al mecanismo de detención del ciclo para

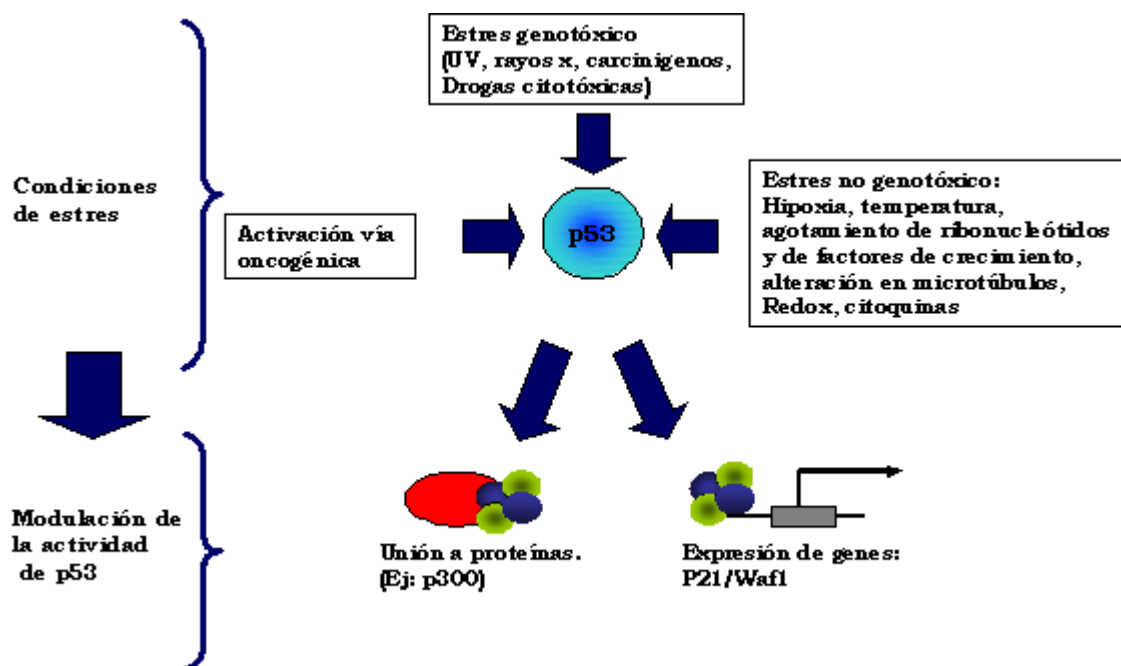


Figura 2. Vías de activación de la proteína p53. (Tomado y modificado de www.IARC.fr)

reparar el daño y de los expuestos anteriormente, en la actualidad la proteína p53 se ha catalogado como “factor de accesibilidad a la cromatina” debido a su capacidad de reclutar a la proteína p300 (HAT) para promover la acetilación de histonas y permitir el acceso de los componentes proteicos del sistema de reparación global del genoma, específicamente los que participan en NER (“Nucleotide Excision Repair”).^{43, 44}

TP53 Y APOPTOSIS

Dentro de las diferentes vías de señalización que utiliza la célula para iniciar el proceso de apoptosis, la vía dependiente de la proteína p53 es de gran importancia cuando es activada por una grave lesión en el ADN, en ausencia de factores de crecimiento, sobreexpresión de oncogenes (myc) o presencia de la proteína E1B; aunque esta inducción se presenta preferiblemente en células hematopoyéticas.⁴⁵⁻⁴⁸

Entre los genes cuya expresión está regulada por la proteína p53 y que influyen en la decisión de ingresar a la vía de apoptosis se encuentran Bax, Bcl2, Fas, Fas-L, IGF-BP3, PIGs (genes relacionados con redox) y DR5;

todos los anteriores, con excepción de Bcl2, son regulados positivamente por la proteína p53. No obstante, cuando células con p53 normal se tratan con cicloheximida (inhibidor de la traducción) o con actinomicina D (inhibidor de la transcripción) no siempre se afecta la vía de apoptosis dependiente de p53, sugiriendo que p53 no requiere de su función transactivadora para inducir apoptosis.^{48, 49} Con base en estas observaciones se han propuesto dos modelos que podrían incluirse en la intrincada red de señalización celular:

El primero consiste en que las proteínas de las familias Bax y Bcl2 al formar canales en la membrana mitocondrial regulan su potencial y controlan a su vez la liberación del citocromo C. El citocromo C al salir de la mitocondria se une a la proteína Apaf-1 produciendo un cambio conformacional para permitir que se una la procaspasa 9 para que ésta se autoactive; una vez activada la procaspasa 9, permite la activación de la cascada de procaspasas que culmina con la muerte celular. El otro modelo propuesto está dado por la transactivación de genes PIGs, que al producir especies reactivas de oxígeno lesionan la mitocondria y permiten la activación de la cascada de las procaspasas, conduciendo finalmente a la apoptosis. Sin embargo,

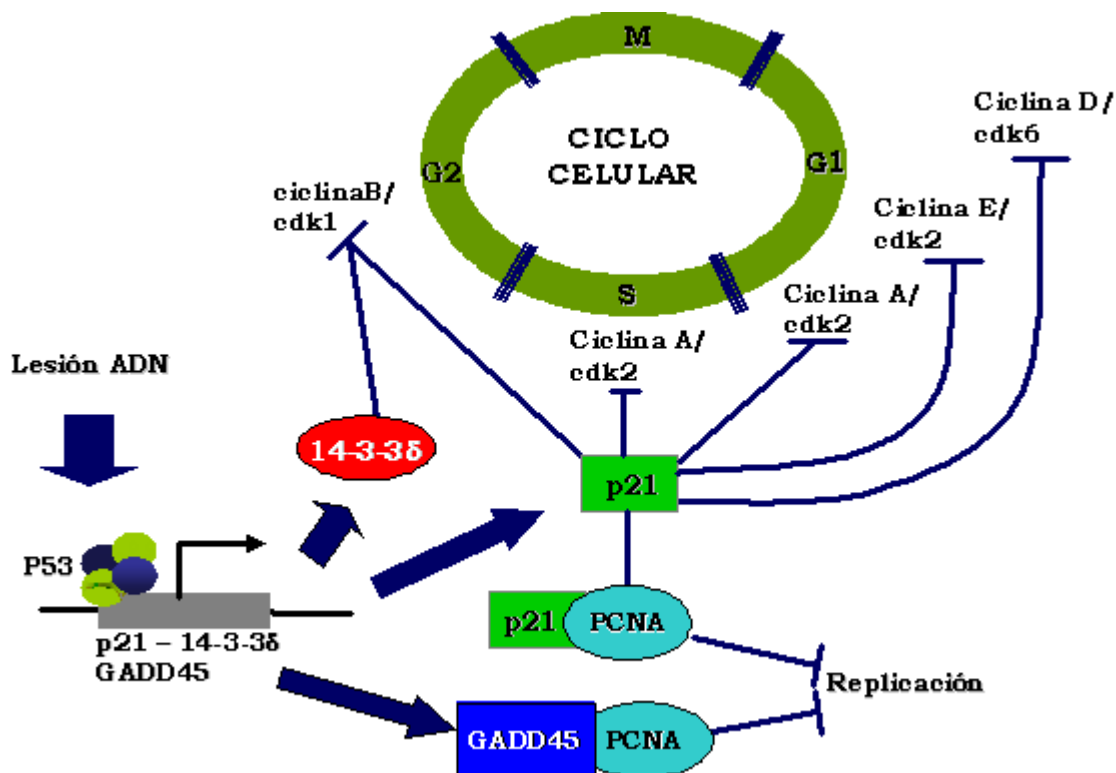


Figura 3. Regulación del ciclo celular por la proteína p53. (Tomado y adaptado de: Cox LS, Lane DP. Tumour suppressors, kinases and clamps: how p53 regulates the cell cycle in response to DNA damage. Bioessays 1995)

se ha encontrado que la vía de señalización de la proteína p53 hacia apoptosis ocurre preferencialmente en algunos tipos de células y en otros conduce a detención del ciclo celular. Para explicar tal diferencia se han propuesto varias hipótesis relacionadas con el tipo de lesión, la capacidad de reparación, con los niveles de p53 e inactivación de la proteína Rb, entre otras.^{50, 51}

TP53 Y CÁNCER

Son numerosos los carcinógenos exógenos y endógenos que aumentan la frecuencia de mutación de este gen. Mediante múltiples estudios en mutagénesis, ha sido posible conocer las variaciones específicas del ADN causadas por los carcinógenos como la N-nitrosammina, LUV, hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAP) y toxinas fúngicas.⁵² Las aneuploidías son los hallazgos citogenéticos más comunes en el cáncer y dentro de ellas se destacan las alteraciones del cromosoma 17 mientras

que las mutaciones en el gen TP53 que conducen a la inactivación del mismo, se han convertido en las alteraciones genéticas puntuales más frecuentes. Entre el 50-60% de todos los tipos de tumores presentan mutación de este gen (Ver figura 4).⁵³ En los tumores sin alteración de TP53 se han informado otras alteraciones en la proteína o en genes que interactúan con él como son: ubicación extranuclear de la proteína p53 (neuroblastoma), interacción con proteínas virales (cáncer de cervix), interacción con la proteína mdm2 sobreexpresada (sarcoma) o inactivación de p19^{ARF}.⁵⁴⁻⁵⁶

De acuerdo con la IARC (*“Internacional Agency Research on Cancer”*), se han informado un total de 18810 mutaciones de este gen en diversos tipos de cáncer, donde las transiciones son las variaciones moleculares más frecuentes y por lo general son de sentido erróneo (Figura 5).

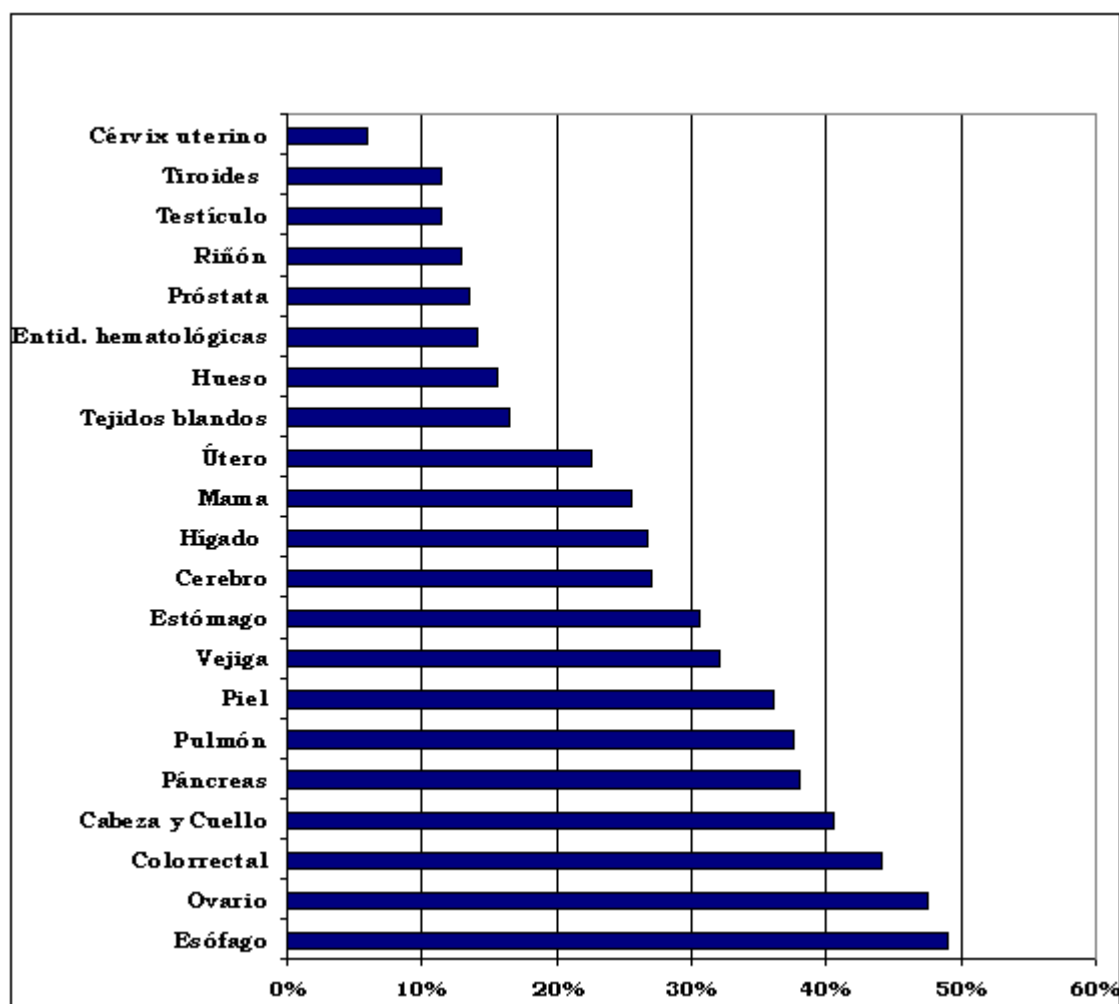


Figura 4. Prevalencia de mutaciones en el gen TP53 en diversos tumores. (Tomado y adaptada de www.iarc.fr/p53)

Con respecto a la localización de las mutaciones, se ha podido establecer que cerca del 80% de las alteraciones genéticas se localizan en el dominio central entre los exones 5 y 8; también se ha establecido que en el proceso oncogénico las mutaciones en otros dominios son raras; los diez codones con mayor frecuencia de mutaciones son: 248, 273, 175, 245, 249, 282, 176, 179, 220, 213.^{26, 57}

En los diferentes tumores, a pesar del amplio espectro de mutaciones informadas en este gen, se indican características similares entre ellos: 1) La alta frecuencia de transiciones en las islas CpG, 2) Frecuentemente el codón 249 está mutado y 3.) Las transversiones están distribuidas a lo largo de toda la secuencia del gen.⁵⁷

La alta mutabilidad en las islas CpG se atribuye a la presencia de 5-metilguanosa que al sufrir deaminación espontánea induce transiciones; por el contrario, las transversiones, se correlacionan con los efectos de la aflatoxina B1 y el virus de la hepatitis B para el carcinoma hepatocelular (especialmente en las poblaciones de China y del sur de África) y el benzo[a]pireno para cáncer del tracto respiratorio (cáncer de pulmón).^{26, 57}

Una de las características más notables de la actividad oncogénica del gen TP53 es interferir con la apoptosis por medio de un mecanismo de regulación negativa dominante, por lo tanto, ofrece una ventaja selectiva a las células cancerosas para el crecimiento, metástasis y resistencia a

la terapia antineoplásica. Dicho mecanismo es explicable por el hecho de que al mismo tiempo se traducen monómeros normales y anormales de la proteína p53 con capacidad de formar complejos no funcionales entre sí (heterotetramerización), alterando el reconocimiento de secuencias específicas del ADN. Otro mecanismo molecular que intenta explicar el efecto oncogénico, sería que proteínas p53 anormales activan o reprimen otros genes que son los responsables de promover los efectos oncogénicos en la vía de la proteína p53. Este es el caso de células con p53 mutada que transactivan a MDR-1 ("MultiDrug Resistance"), *c-myc*, EGFR, promotores de PCNA, IL6, hsp70 e IGF-2,⁵⁸⁻⁶⁵ lo anterior sugiere que las proteínas p53 anormales requieren de la integridad de la región amino-terminal para activar genes que ejercen el efecto oncogénico.

Adicional a las diferentes relaciones de mutaciones somáticas del gen TP53 con cáncer, se destaca el Síndrome de Li-Fraumeni, entidad de carácter autosómico dominante asociada a mutaciones germinales en TP53 generando una alta predisposición familiar para desarrollar diversos tipos de cáncer (sarcomas, cáncer de mama, etc).⁵

Por otra parte, recientemente se le ha atribuido a la proteína p53 una función para el proceso metastásico debido a su acción inhibitoria sobre los genes implicados en la formación de nuevos vasos sanguíneos

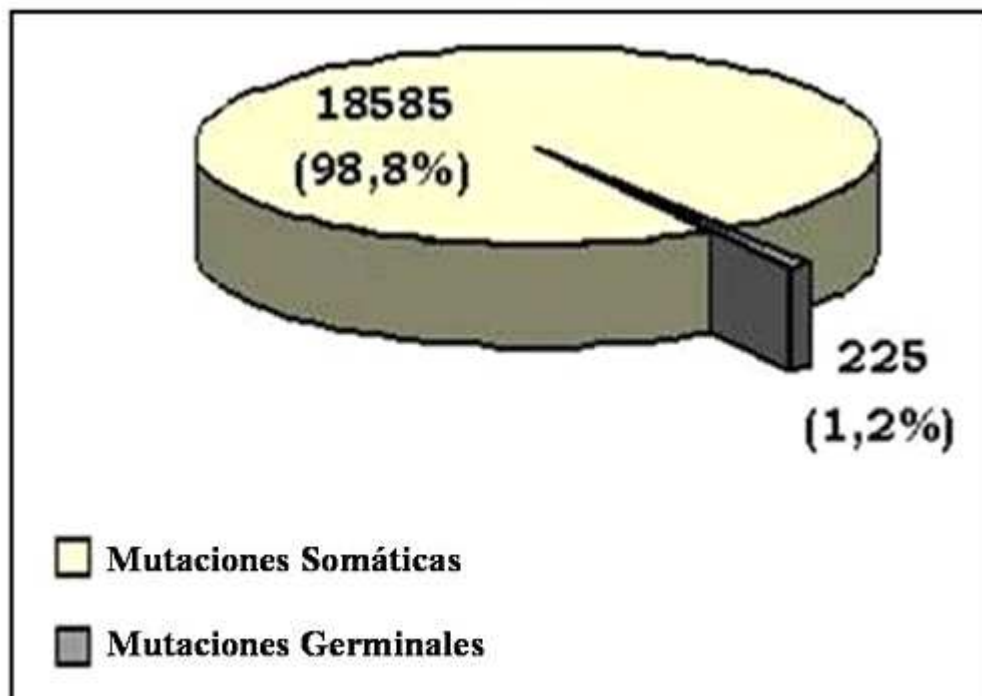


Figura 5. Número de mutaciones informadas en el gen TP53. (Tomada y adaptada de www.iarc.fr/p53)

(angiogénesis).⁶⁶⁻⁶⁸ Se han demostrado mutaciones en el gen TP53 que disminuyen la expresión de trombospodina-1 (inhibidor de la angiogénesis) e induce la expresión de los genes FGF y VEGF, BAI1, Maspin, GD-AIF.⁶⁹⁻⁷² De esta manera las células con mutación de TP53 podrían presentar una ventaja para el crecimiento adicional a las anotadas anteriormente.

Generalmente, se sugiere que en la formación y/o progresión de un tumor de cualquier origen histológico está implicado la inactivación de la proteína p53 por diferentes mecanismos, lo que indica que a pesar de que la secuencia del gen no esté afectada, la proteína debe de sufrir modificaciones postraduccionales necesarias para cumplir sus funciones; es decir, si la inactivación ocurre en alguno de las vías que activan a la proteína p53 (corriente arriba) o de componentes que ésta activa (corriente abajo), se presentan efectos similares a una inactivación directa de la proteína p53 por mutación en el gen TP53, situación que se observa en el 30% de los osteosarcomas que muestran sobreexpresión de su regulador negativo, la proteína mdm2;^{73, 74} así mismo, se consideran las diferencias en microambientes (tanto metabólicas como de reparación) entre un tejido y otro; lo anterior podría constituir un mecanismo claro para explicar el 40% restante de tumores que no presentan alteración en el gen TP53.

Teniendo presente la importancia del gen TP53 para la estabilidad genómica de las células, no debería sorprender su alta tasa de mutación en la oncogénesis, por tal motivo es notable el gran esfuerzo de muchos investigadores por correlacionar los diferentes tipos de mutaciones con el valor pronóstico y predictivo, e implementar nuevas estrategias terapéuticas con el objeto de recuperar su función, inclusive en el proceso de envejecimiento: en vista de que una baja actividad de la proteína p53 estimula el crecimiento de células cancerosas y una hiperactividad puede acelerar el proceso de envejecimiento.^{15, 75-81} Para tal fin, se han intentado algunas terapias antineoplásicas para reestablecer la función de proteínas p53 o inactivar las proteínas anormales, se mencionan las siguientes: introducir genes TP53 normales en células con genes mutantes; adicionar proteínas que se unan a la proteína p53 mutada e induzcan muerte celular; estimular el sistema inmune de los pacientes para atacar las células con p53 mutada; introducir drogas que rompan la interacción con los reguladores negativos (mdm2 y E6); introducir material genético viral para simular en las células un daño genético e inducir apoptosis en aquellas células con inactivación de p53; introducir en células con proteína p53 anormal un adenovirus (ONIX-015)

con capacidad de replicarse e inducir muerte celular; y entre estas se destaca introducir componentes proteicos que conviertan la estructura anormal de las mutantes en una conformación adecuada y funcional.⁸²⁻⁸⁴ Esta última metodología ha llamado la atención y parece ser prometedora para tal fin y próximamente se ensayarán en modelos *in vivo*, para lo cual los investigadores cuentan ahora con tres obstáculos que deben superarse: los péptidos son degradados por proteasas del sistema ubiquitina, las células en condiciones normales no toman eficientemente péptidos del medio externo y los activadores peptídicos no son potentes.⁸¹ Debe mencionarse, que las terapias anteriormente mencionadas se encuentran en su fase de experimentación y todavía no se tienen resultados concluyentes.

Finalmente, se destaca como las numerosas investigaciones básicas en la biología del cáncer y el análisis de las bases de datos de mutaciones del gen TP53 ha permitido correlacionar el tipo de mutaciones inducidas por mutágenos específicos con diversos cánceres. De tal manera que se dispone de una herramienta útil para la localización de regiones importantes en la actividad del gen y de la proteína y su papel en el desarrollo del cáncer, así como, un mejor entendimiento de los mecanismos moleculares para el diseño de innovadores protocolos en los tratamientos antineoplásicos.

ABREVIATURAS

ATM: ataxia telangiectasia mutated
 BAI1: brain-specific angiogenesis inhibitor 1
 Bax: BCL2-associated X protein
 Bcl2: B-cell CLL/lymphoma 2
 Cdk: cyclin dependent kinases
 DR5: death receptor 5
 EGFR: epidermal growth factor receptor
 E2F: E2F transcription factor
 Fas: fatty acid synthase
 Fas-L: ligand FAS
 FGF: fibroblast growth factor
 GD-AIF: glioma-derived angiogenesis inhibitory factor
 Hsp70: Heat-shock protein 70
 IGF-BP: insulin-like growth factor-binding protein
 kD: KiloDalton
 Mdm2: Mouse double minute 2
 Nbs1: Nijmegen breakage syndrome 1
 PIGs: phosphatidylinositol glycan, class S
 pRb: protein retinoblastoma
 P14^{ARF}: p14 alternata open reading frame (ARF)
 Residuos de aminoácidos A: residuos de alanina
 Residuos de aminoácidos C: residuos de cisteína

Residuos de aminoácidos H: residuos de histidina
Residuos de aminoácidos K: residuos de lisina
Residuos de aminoácidos L: residuos de leucina
Residuos de aminoácidos R: residuos de arginina
Residuos de aminoácidos S: residuos de serina
Residuos de aminoácidos W: residuos de triptófano
RPA: Replication protein A
SV40: simian virus 40
TAF: TBP-associated factor
TBP: TATA binding protein
TP53: tumor protein p53
VEGF: vascular endothelial growth factor

REFERENCIAS

- Holleb AI, Fink DJ, Murphy GP. American cancer society textbook of clinical oncology. First edition 1991
- www.who.int/mediacentre/news/releases/2003/pr27/en
- Harris CC. From basic research laboratory to clinic-an abridged historical perspective. *Carcinogenesis*. 1996; 17:187-98
- Gasco M, Crook T. The p53 network in head and neck cancer. *Oral Oncology*. 2003; 39:222-31
- Trkovaa M, Foretovab L, Kodetc R, Hedvicakovaa P, Sedlaceka Z. A Li-Fraumeni syndrome family with retained heterozygosity for a germline TP53 mutation in two tumors. *Cancer Genetics and Cytogenetics*. 2003; 145:60-4
- Lane DP, Crawford LV. T antigen is bound to a host protein in SV40-transformed cells. *Nature*. 1979; 278:261-3
- Lane DP, Benchimol S. P53: Oncogene or anti-oncogene? *Genes Dev*. 1990; 4:1-8
- Soussi T, Caron de Fromentel C, Méchali M, May P, Kress M. Cloning and characterization of a cDNA from *Xenopus laevis* coding for a protein homologous to human and murine p53. *Oncogene*. 1987; 1:71-8
- Lin JY, Chen JD, Elenbaas B, Levine AJ. Several hydrophobic amino acids in the p53 amino-terminal domain are required for transcriptional activation, binding to mdm-2 and the adenovirus 5 E1B 55-kD protein. *Genes Dev* 1994; 8(10):1235-46
- Picksley SM, Vojtesek B, Sparks A, Lane DP. Immunohistochemical analysis of the interaction of p53 with MDM2; fine mapping of the MDM2 binding site on p53 using synthetic peptides. *Oncogene* 1994; 9:2523-9
- Dutta A, Ruppert JM, Aster JC, Winchester E. Inhibition of DNA replication factor RPA by p53. *Nature*. 1993; 365(6441):79-82
- Lam KT, Calderwood SK. Hsp70 binds specifically to a peptide derived from the highly conserved domain (I) region of p53. *Biochem Biophys Res Commun*. 1992; 184(1):167-74
- Kao CC, Yew PR, Berk AJ. Domains required for in vitro association between the cellular p53 and the adenovirus 2 E1B 55K proteins. *Virology*. 1990; 179(2):806-14
- Thut CJ, Chen JL, Klemm R, Tjian R. P53 transcriptional activation mediated by coactivators TAFII40 and TAFII60. *Science* 1995; 267(5194):100-4
- Harris N, Brill E, Shohat O, Prokocimer M, Wolf D, Arai N, Rotter V. Molecular basis for heterogeneity of the human p53 protein. *Mol Cell Biol*. 1986; 6(12):4650-6
- Wang P, Reed M, Wang Y, Mayr G, Stenger JE, Anderson ME, Schwedes JF, Tegtmeyer P. P53 domains: structure, oligomerization, and transformation. *Mol Cell Biol*. 1994; 8:5182-91
- Shaulsky G, Goldfinger N, Benzeev A, Rotter V. Nuclear accumulation of p53 protein is mediated by several nuclear localization signals and plays a role in tumorigenesis. *Mol Cell Biol*. 1990; 12:6565-77
- Hupp TR, Lane DP. Two distinct signaling pathways activate the latent DNA binding function of p53 in a casein kinase II-independent manner. *J Biol Chem*. 1995; 270(30):18165-74
- Shaw P, Freeman J, Bovey R, Iggo R. Regulation of specific DNA binding by p53: evidence for a role for O-glycosylation and charged residues at the carboxy-terminus. *Oncogene* 1996; 12 (4):921-30
- Soussi T, Beroud C. Assessing TP53 status in human tumours to evaluate clinical outcome. *Nature Rev Cancer*. 2001; 1:233-40
- Levine AJ. P53, the Cellular Gatekeeper for Growth and Division. *Cell* 1997; 88 (3):323-31
- Zhao R, Gish K, Murphy M, Yin Y, Notterman D, Hoffman WH, Tom E, Mack DH, Levine AJ. Analysis of p53-regulated gene expression patterns using oligonucleotide arrays. *Genes Dev* 2000; 14:981-93
- Wang Q, Zambetti GP, Suttle DP. Inhibition of DNA topoisomerase II alpha gene expression by the p53 tumor suppressor. *Mol Cell Biol* 1997. 17:389-97
- Ko LJ, Prives C. P53: puzzle and paradigm. *Genes Dev*. 1996; 10:1054-72
- Horikoshi N, Usheva A, Chen J, Levine AJ, Weinmann R, Shenk T. Two domains of p53 interact with the TATA-binding protein, and the adenovirus 13S E1A protein disrupts the association, relieving p53-mediated transcriptional repression. *Mol Cell Biol*. 1995; 1:227-34
- www.iarc.fr/p53
- Soussi T, May P. Structural aspects of the p53 protein in relation to gene evolution: a second look. *J Mol Biol*. 1996; 260(5):623-37
- Maki CG, Howley PM. Ubiquitination of p53 and p21 is Differentially Affected by Ionizing and UV Radiation *Mol Cell Biol* 1997; 17:355-363

29. Kastan MB, Onyekwere O, Sidransky D, Vogelstein B, Craig RW. Participation of p53 protein in the cellular response to DNA damage. *Cancer Res* 1991;51:6304-11
30. Van Laar T, Steegenga WT, Jochemsen AG, Terleth C, Van Der Eb AJ. Bloom's syndrome cells GM1492 lack detectable p53 protein but exhibit normal G1 cell-cycle arrest after UV irradiation. *Oncogene* 1994; 9(3):981-3
31. Clarkin KC, Tsou A, Wahl GM. A reversible, p53-dependent G0/G1 cell cycle arrest induced by ribonucleotide depletion in the absence of detectable DNA damage. *Genes Dev.* 1996;10(8):934-47
32. Waga S, Hannon GJ, Beach D, Stillman B. The p21 inhibitor of cyclin-dependent kinases controls DNA replication by interaction with PCNA. *Nature.* 1994; 369(6481):574-8
33. Delavaine L, La Thangue NB. Control of E2F activity by p21Waf1/Cip1. *Oncogene* 1999; 18(39):5381-92
34. Cox LS, Lane DP. Tumour suppressors, kinases and clamps: how p53 regulates the cell cycle in response to DNA damage. *Bioessays* 1995; 6:501-8
35. Buckbinder L, Talbott R, Velasco_Miguel S, Takenaka I, Faha B, Seizinger BR, Kley N. Induction of the growth inhibitor IGF-binding protein 3 by p53. *Nature* 1995; 377(6550):646-9
36. Fukasawa K, Vande Woude GF. Synergy between the Mos/mitogen-activated protein kinase pathway and loss of p53 function in transformation and chromosome instability. *Mol Cell Biol.* 1997; 17:506-518
37. Serrano M, Lin A, McCurrach ME, Beach D, Lowe SW. Oncogenic *ras* Provokes Premature Cell Senescence Associated with Accumulation of p53 and p16^{INK4a}. *Cell.* 1997; 88 (5):593-602.
38. Brown CR, Doxsey SJ, White E, Welch WJ. Both viral (adenovirus E1B) and cellular (hsp 70, p53) components interact with centrosomes. *J Cell Physiol.* 1994; 160(1):47-60
39. Di Leonardo A, Khan SH, Linke SP, Greco V, Seidita G, Wahl GM. DNA rereplication in the presence of mitotic spindle inhibitors in human and mouse fibroblasts lacking either p53 or pRb function. *Cancer Res.* 1997; 57:1013-19
40. Kastan MB, Zhang Q, El-deiry WS, Carrier S, Jacks T, Wagber EF, Stark GR. A mammalian cell cycle checkpoint pathway utilizing p53 and GADD45 is defective in ataxia-telangiectasia. *Cell.* 1992; 71(4):587-97
41. Lu X, Lane DP. Differential induction of transcriptionally active p53 following UV or ionizing radiation: defects in chromosome instability syndromes? *Cell.* 1993; 75(4):765-78
42. Jongmans W, Vuillaume M, Chrzanowska K, Smeets D, Sperling K, Hall J. Nijmegen breakage syndrome cells fail to induce the p53-mediated DNA damage response following exposure to ionizing radiation. *Mol Cell Biol.* 1997; 17:5016-22
43. Rubbi CP, Milner J. Guardian of a Genome's Guardian. *Cell Cycle.* 2003; 2:20-21
44. Rubbi CP, Milner J. p53 is a chromatin accessibility factor for nucleotide excision repair of DNA damage. *The EMBO Journal.* 2003; 22 (4):975-86
45. Whitacre CM, Hashimoto H, Tsai ML, Chatterjee S, Berger SJ, Berger NA. Involvement of NAD-poly(ADP-ribose) metabolism in p53 regulation and its consequences *Cancer Res.* 1995; 55:3697-3701
46. Clarke A, Purdie CA, Harrison DJ, Morris RG, Bird CC, Hooper ML, Wyllie AH. Thymocyte apoptosis induced by p53-dependent and independent pathways. *Nature.* 1993; 362(6423):849-52
47. Lowe SW, Ruley HE. Stabilization of the p53 tumor suppressor is induced by adenovirus 5 E1A and accompanies apoptosis. *Genes Dev.* 1993; 7(4):535-45
48. Debbas M, White E. Wild-type p53 mediates apoptosis by E1A, which is inhibited by E1B. *Genes Dev.* 1993 Apr 7;4 546-54
49. Wagner AJ, Kokontis JM, Hay N. Myc-mediated apoptosis requires wild-type p53 in a manner independent of cell cycle arrest and the ability of p53 to induce p21waf1/cip1. *Genes Dev.* 1994; 8(23):2817-30
50. Caelles C, Helmlberg A, Karin M. P53-dependent apoptosis in the absence of transcriptional activation of p53-target genes. *Nature.* 1994; 370(486):220-3
51. Chen X, Ko LJ, Jayaraman L, Prives C. P53 levels, functional domains, and DNA damage determine the extent of the apoptotic response of tumor cells. *Genes Dev.* 1996; 10:2438-51
52. Qin XQ, Livingston DM, Kaelin WG, Adams PD. Deregulated transcription factor E2F-1 expression leads to S-phase entry and p53-mediated apoptosis. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1994; 91(23):10918-22
53. Friedberg EC. How nucleotide excision repair protects against cancer. *Nature Review Cancer.* 2001; 1:22-33
54. Deppert W, Göhler T, Koga H, Kim E. Mutant p53: "gain of function" through perturbation of nuclear structure and function? *J Cell Biochem Sup.* 2000; 35: 115-22
55. Tweddle DA, Pearson AD, Haber M, Norris MD, Xue C, Flemming C, Lunec J. The p53 pathway and its inactivation in neuroblastoma. *Cancer Lett.* 2003; 197:93-8
56. Hietanen S, Lain S, Krausz E, Blattner C, Lane DP. Activation of p53 in cervical carcinoma cells by small molecules. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2000; 97(15):8501-6

57. Jiao YF, Nakamura S, Habano W, Uesugi N, Oikawa M, Sato T. P53 gene mutation and MDM2 overexpression in a case of primary malignant fibrous histiocytoma of the jejunum. *APMIS* 2002; 110:165-71
58. Hollstein M, Sindransky D, Volgestein B, Harris CC. P53 mutations in human cancers. *Science*. 1991; 253:49-53
59. Kern SE, Pietenpol JA, Thiagalingam S, Seymour A, Kinzler KW, Vogelstein B. Oncogenic forms of p53 inhibit p53-regulated gene expression. *Science* 1992; 256(5058):827-30
60. Lin J, Teresky AK, Levine AJ. Two critical hydrophobic amino acids in the N-terminal domain of the p53 protein are required for the gain of function phenotypes of human p53 mutants. *Oncogene*. 1995; 10(12):2387-90
61. Frazier MW, He X, Wang J, Gu Z, Cleveland JL, Zambetti GP. Activation of c-myc gene expression by tumor-derived p53 mutants requires a discrete C-terminal domain. *Mol Cell Biol*. 1998; 18(7):3735-43
62. Ludes-Meyers JH, Subler MA, Shivakumar CV, Munoz RM, Jiang P, Bigger JE, Brown DR, Deb SP, Deb S. Transcriptional activation of the human epidermal growth factor receptor promoter by human p53. *Mol. Cell. Biol*. 1996; 16:6009-19
63. Deb S, Jackson CT, Subler MA, Martin DW. Modulation of cellular and viral promoters by mutant human p53 proteins found in tumor cells. *J Virol*. 1992; 66(10):6164-70
64. Margulies L, Sehgal PB. Modulation of the human interleukin-6 promoter (IL-6) and transcription factor C/EBP beta (NF-IL6) activity by p53 species. *J Biol Chem*. 1993; 268(20):15096-100
65. Tsutsumi-Ishii Y, Tadokoro K, Hanaoka F, Tsuchida N. Response of heat shock element within the human HSP70 promoter to mutated p53 genes. *Cell Growth Differ*. 1995; 6(1):1-8
66. Lee YI, Lee S, Das GC, Park US, Park SM, Lee YI. Activation of the insulin-like growth factor II transcription by aflatoxin B1 induced p53 mutant 249 is caused by activation of transcription complexes; implications for a gain-of-function during the formation of hepatocellular carcinoma. *Oncogene*. 2000; 19:3717-26
67. Hsiao M, Low J, Dorn E, Ku D, Pattengale P, Yeargin J, Haas M. Gain-of-function mutations of the p53 gene induce lymphohematopoietic metastatic potential and tissue invasiveness. *Am J Pathol*. 1994; 145(3):702-14
68. Sigal A, Rotter V. Oncogenic mutations of the p53 tumor suppressor: The demons of the guardian of the genome. *Cancer res*. 2000; 60:678-93
69. Crook T, Vousden KH. Properties of p53 mutations detected in primary and secondary cervical cancers suggest mechanisms of metastasis and involvement of environmental carcinogens. *EMBO J*. 1992; 11(11):3935-40
70. Tabor MP, Van Houten V, Kummer JA, Vosjan MJ, Vlasblom R, Snow GB, Leemans CR, Braakhuis B, Brakenhoff RH. Discordance of genetic alterations between primary head and neck tumors and corresponding metastases associated with mutational status of the TP53 gene. *Genes, Chromosomes & Cancer*. 2002; 33:168-77
71. Grant SW, Kyshtoobayeva AS, Kurosaki T, Jakowatz J, Fruehauf JP. Mutant p53 correlates with reduced expression of thrombospondin-1, increased angiogenesis, and metastatic progression in melanoma. *Cancer Detect Prev*. 1998; 22(3):185-94
72. Takahashi Y, Bucana CD, Cleary KR, Ellis IM. p53, vessel count, and vascular endothelial growth factor expression in human colon cancer. *Int J Cancer*. 1998; 79:134-8
73. Volgestein B, Lane D, Levine AJ. Surfing the p53 network. *Nature*. 2000; 408:307-10
74. Dumaz N, Milne DM, Jardine LJ, Meek DW. Critical roles for the serine 20, but not the serine 15, phosphorylation site and for the polyproline domain in regulating p53 turnover. *Biochem. J*. 2001; 359:459-64
75. Galmarini CM, Kamath K, Vanier-Viorner A, Hervieu V, Peiller E, Falette N, Puisieux A, Ann Jordan MA, Dumontet C. Drug resistance associated with loss of p53 involves extensive alterations in microtubule composition and dynamics. *British Journal of Cancer*. 2003; 88:1793-9
76. Jain D, Srinivasan R, Patel FD, Gupta SK. Evaluation of p53 and Bcl-2 Expression as Prognostic Markers in Invasive Cervical Carcinoma Stage IIb/III Patients Treated by Radiotherapy. *Gynecologic Oncology*. 2003; 88:22-28
77. Chen H, Su W, Guo H, Chang T, Lee W. P53 and c-erbB-2 but Not bcl-2 are Predictive of Metastasis-free Survival in Breast Cancer Patients Receiving Post-mastectomy Adjuvant Radiotherapy in Taiwan. *Jpn J Clin Oncol*. 2002; 32 (9):332-9
78. Yamasawa K, Nio Y, Dong M, Yamaguchi K, Itakura M. Clinicopathological Significance of Abnormalities in Gadd45 Expression and Its Relationship to p53 in Human Pancreatic Cancer. *Clinical Cancer Research*. 2002; 8:2563-9
79. Valkov N, Sullivan D. Tumor p53 status and response to topoisomerase II inhibitors. *Drug Resistance Updates*. 2003; 6:27-39
80. Lane D, Hupp T. Drug discovery and p53. *Drug Discovery Today*. 2003; 8 (8):347-55

81. Lane D. Curing the p53. N Engl J Med. 2004; 350:26-4
82. Volgestein B, Kinzler K. Achilles' heel of cancer? Nature; 412(6850):865-6
83. Raj K, Ogston P, Beard P. Virus-mediated killing of cells that lack p53 activity. Nature. 2001; 412(6850):914-7
84. Lain S, Lane D. Improving cancer therapy by non-genotoxic activation of p53. European Journal of Cancer. 2003; 39:1053-60